

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
 федеральное государственное автономное
 образовательное учреждение высшего образования
 «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» (ТПУ)

Инженерная школа новых производственных технологий
 Направление подготовки 19.03.01 «Биотехнология»
 Научно-образовательный центр Н.М. Кижнера

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

Тема работы
Изучение биоразложения полимерных материалов

УДК: 678.5:620.193.8

Студент

Группа	ФИО	Подпись	Дата
4Д61	Дидюкова Мария		08.06.2020

Руководитель ВКР

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент	Чубик Марианна Валериановна	к.м.н., доцент		10.06.2020

КОНСУЛЬТАНТЫ ПО РАЗДЕЛАМ:

По разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент	Кащук Ирина Вадимовна	к.т.н., доцент		26.04.2020

По разделу «Социальная ответственность»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Ассистент	Черемискина Мария Сергеевна	-		24.04.2020

ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ:

Руководитель ООП	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент НОЦ Н.М. Кижнера ИШНПТ ТПУ	Лесина Ю.А.	к.х.н.		10.06.2020

Планируемые результаты обучения
по ООП 19.03.01 «Биотехнология» (бакалавр)
профиль «Биотехнология»

Код результата	Результат обучения (выпускник должен быть готов)
Общекультурные компетенции	
P1	Способность самостоятельно совершенствовать и развивать свой интеллектуальный, общекультурный и профессиональный уровень, добиваться нравственного и физического совершенствования своей личности
P2	Готовность к кооперации с коллегами для выполнения научно-исследовательских и научно-производственных работ, в том числе интернациональных; способность проявлять инициативу, личную ответственность; быть коммуникабельным.
P3	Демонстрировать понимание вопросов устойчивого развития современной цивилизации, безопасности и здравоохранения, юридических аспектов, ответственности за инженерную деятельность, влияние инженерных решений на социальный контекст и социальную среду
Профессиональные компетенции	
P4	Способность к овладению базовыми знаниями в области базовых естественных и технических наук, применение их в различных видах профессиональной деятельности
P5	Понимать сущность и значение информации в развитии современного информационного общества, быть готовым к использованию в профессиональной деятельности информационных и коммуникативных технологий
P6	Быть способным к планированию, проведению теоретических и экспериментальных исследований, обработке полученных результатов и представлению их в форме, адекватной задаче
P7	Быть способным к организационно-управленческой и инновационной деятельности в биофармацевтической области, демонстрировать знания для решения проблем устойчивого развития

Министерство образования и науки Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»



Инженерная школа новых производственных технологий
 Направление подготовки 19.03.01 «Биотехнология»
 Научно-образовательный центр Н.М. Кижнера

УТВЕРЖДАЮ:
 Руководитель ООП
 _____ Лесина Ю.А.
 (Подпись) (Дата) (Ф.И.О.)

ЗАДАНИЕ
на выполнение выпускной квалификационной работы

В форме:

бакалаврской работы

(бакалаврской работы, дипломного проекта/работы, магистерской диссертации)

Студенту:

Группа	ФИО
4Д61	Дидюковой Марии

Тема работы:

Изучение биоразложения полимерных материалов	
Утверждена приказом директора (дата, номер)	02.03.2020 г. №62-57/с

Срок сдачи студентом выполненной работы:	08.06.2020 г.
--	---------------

ТЕХНИЧЕСКОЕ ЗАДАНИЕ:

<p>Исходные данные к работе</p> <p><i>(наименование объекта исследования или проектирования; производительность или нагрузка; режим работы (непрерывный, периодический, циклический и т. д.); вид сырья или материал изделия; требования к продукту, изделию или процессу; особые требования к особенностям функционирования (эксплуатации) объекта или изделия в плане безопасности эксплуатации, влияния на окружающую среду, энергозатратам; экономический анализ и т. д.).</i></p>	<p><i>Объектом исследования является пластик вида PET (полиэтилентерефталат), PP (полипропилен), HDPE (полиэтилен высокой плотности), LDPE (полиэтилен низкой плотности).</i></p>
---	---

Перечень подлежащих исследованию, проектированию и разработке вопросов <i>(аналитический обзор по литературным источникам с целью выяснения достижений мировой науки техники в рассматриваемой области; постановка задачи исследования, проектирования, конструирования; содержание процедуры исследования, проектирования, конструирования; обсуждение результатов выполненной работы; наименование дополнительных разделов, подлежащих разработке; заключение по работе).</i>	<ul style="list-style-type: none"> Обзор литературы Объект и методы исследования Описание экспериментальной части Результаты проведенного исследования Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение Социальная ответственность Выводы
Перечень графического материала <i>(с точным указанием обязательных чертежей)</i>	нет
Консультанты по разделам выпускной квалификационной работы <i>(с указанием разделов)</i>	
Раздел	Консультант
Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение	Кащук Ирина Вадимовна, доцент отдела социально-гуманитарных наук, к.т.н.
Социальная ответственность	Черемискина Мария Сергеевна, ассистент отделения общетехнических дисциплин

Дата выдачи задания на выполнение выпускной квалификационной работы по линейному графику	11.04.2020 г.
---	---------------

Задание выдал руководитель:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент НОЦ Н.М. Кижнера	Чубик Марианна Валериановна	к.м.н., доцент		11.04.2020

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
4Д61	Дидюкова Мария		11.04.2020

ЗАДАНИЕ ДЛЯ РАЗДЕЛА «ФИНАНСОВЫЙ МЕНЕДЖМЕНТ, РЕСУРСОЭФФЕКТИВНОСТЬ И РЕСУРСОСБЕРЕЖЕНИЕ»

Студенту:

Группа	ФИО
4Д61	Дидюкова Мария

Школа	Отделение школы (НОЦ)
Уровень образования	Бакалавриат
	Направление/специальность
	Биотехнология

Исходные данные к разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»:

Стоимость ресурсов научного исследования (НИ): материально-технических, финансовых, информационных и человеческих	Стоимость материальных ресурсов и специального оборудования определены в соответствии с рыночными ценами г. Томска. Тарифные ставки исполнителей определены штатным расписанием НИ ТПУ
Нормы и нормативы расходования ресурсов	Норма амортизационных отчислений на специальное оборудование
Используемая система налогообложения, ставки налогов, отчислений, дисконтирования и кредитования	Отчисление во внебюджетные фонды 30%

Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:

Оценка коммерческого потенциала научного исследования (НИ)	Анализ и оценка конкурентоспособности НИ. SWOT-анализ
Формирование плана и графика разработки и внедрения НИ	Структура работ. Определение трудоемкости. Разработка графика проведения исследования.
Составление бюджета научного исследования (НИ)	Расчет бюджетной стоимости НИ по разработке
Оценка ресурсной, финансовой, бюджетной эффективности НИ	Интегральный финансовый показатель Интегральный показатель ресурсоэффективности Интегральный показатель эффективности

Перечень графического материала (с точным указанием обязательных чертежей)

Оценка перспективности нового продукта
Матрица SWOT
График разработки и внедрения ИР
Бюджет НИ
Основные показатели эффективности НИ

Дата выдачи задания для раздела по линейному графику	11.04.2020 г.
--	---------------

Задание выдал консультант:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент	Кашук Ирина Вадимовна	к.т.н., доцент		11.04.2020

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
4Д61	Дидюкова Мария		11.04.2020

ЗАДАНИЕ ДЛЯ РАЗДЕЛА «СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ»

Студенту:

Группа	ФИО
4Д61	Дидюкова Мария

Школа	Инженерная школа новых производственных технологий	Отделение (НОЦ)	НОЦ им. Н.М. Кижнера
Уровень образования	Бакалавриат	Направление/специальность	19.03.01 «Биотехнология»

Тема ВКР:

Изучение биоразложения полимерных материалов	
Исходные данные к разделу «Социальная ответственность»:	
1. Характеристика объекта исследования и области его применения	<p>Объект исследования: полимерные материалы, подвергающиеся биodeградации микроорганизмами.</p> <p>Рабочая зона: лаборатория Биотехнологии НОЦ им. Н.М. Кижнера.</p> <p>Область применения: совершенствование методик утилизации полимерных отходов.</p>
Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:	
1. Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности: <ul style="list-style-type: none"> – специальные (характерные при эксплуатации объекта исследования, проектируемой рабочей зоны) правовые нормы трудового законодательства; – организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны. 	<p>ГОСТ 12.1.004-91 ССБТ. Пожарная безопасность. Общие требования (с Изменением N 1);</p> <p>ГОСТ 12.4.009-83 ССБТ. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание (с Изменением N 1);</p> <p>Трудовой кодекс Российской Федерации от 30.12.2001 N 197-ФЗ (ред. от 16.12.2019);</p> <p>ГОСТ 12.2.033-78 ССБТ. Рабочее место при выполнении работ стоя. Общие эргономические требования.</p>
2. Производственная безопасность: Анализ выявленных вредных и опасных факторов и обоснование мероприятий по снижению воздействия	<p>Вредные факторы:</p> <ol style="list-style-type: none"> Патогенные и условно патогенные микроорганизмы; Недостаток необходимого естественного освещения; Отклонение от показателей микроклимата; Химические вредные факторы; <p>Опасные факторы:</p> <ol style="list-style-type: none"> Высокая температура материальных объектов лабораторной среды; Повышенное значение напряжения в электрической цепи.
3. Экологическая безопасность:	<p>Источниками всех отходов, появившихся в результате данной работы, являются поставленные эксперименты и их обработка в микробиологической лаборатории.</p> <p>Атмосфера: малые выбросы.</p> <p>Гидросфера: малые выбросы. Литосфера: малые выбросы.</p>
4. Безопасность в чрезвычайных ситуациях:	<p>Вероятными чрезвычайными ситуациями на рабочем месте являются пожар и взрыв, которые могут произойти вследствие</p>

	работы с лабораторным оборудованием и легко воспламеняющимися жидкостями.
--	---

Дата выдачи задания для раздела по линейному графику	11.04.2020 г.
---	---------------

Задание выдал консультант:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Ассистент	Черемискина М.С.	-		11.04.2020

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
4Д61	Дидюкова Мария		11.04.2020

Реферат

Выпускная квалификационная работа 100 с., 8 схем, 11 фото, 3 рис., 24 табл., 57 источников, 5 приложений.

Ключевые слова: биodeградация, полимерные отходы, пластик, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus niger*, *Penicillium, spp.*, активный ил.

Объектом исследования является пластик видов PET, PP, HDPE, LDPE (см. сокращения).

Цель работы – изучить биоразложение различных видов пластиков с участием микроорганизмов.

В процессе исследования определяли условия биodeградации в отношении пластика видов PET, PP, HDPE, LDPE. Для этого использовали чистые культуры отдельных микроорганизмов, а именно *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus niger*, *Penicillium, spp.* Другая часть экспериментов проводилась с участием природных ассоциаций микроорганизмов, выделенных из придонного ила.

В результате исследования установили зависимость от условий проведения эксперимента, сделали вывод о том, что период работы был недостаточным для эффективного протекания процесса биоразложения полимерных материалов.

Область применения: совершенствование методик утилизации полимерных отходов на промышленных предприятиях, полигонах ТКО и свалках.

По результатам проведенного исследования планируются дальнейшие эксперименты по установлению параметров биоразрушающего эффекта с целью создания лиофилизированного коммерческого препарата для ремедиации загрязненных территорий и сокращения количества полимерных отходов.

Список сокращений

АТМ – атомно-силовой микроскоп

ГРМ-агар – гидролизат рыбной муки

МПБ – мясопептонный бульон

ПВХ/PVC/V – поливинилхлорид

ПЭВП/HDPE – полиэтилен высокой плотности

ПЭНП/LDPE – полиэтилен низкой плотности

ПЭТ/PETE/PET – полиэтилентерефталат

ПП/PP – полипропилен

ПС/PS – полистирол

УФ – ультрафиолет

Оглавление

Введение.....	13
1 Обзор литературы	14
1.1 Проблема загрязнения полимерными отходами и пластиками.....	14
1.2 Виды пластика	15
1.3 Управление отходами	19
1.4 Биотехнология и биодеструкция	22
1.5 Микроорганизмы – биodeграданты и методы оценки способности пластиков (полимеров) к биоразложению	26
2 Объекты и методы исследования	30
2.1 Объект исследования	30
2.2 Материалы исследования	30
2.2.1 Питательные среды	31
2.2.2 Пластик.....	32
2.2.3 Грунт.....	32
2.2.4 Микроорганизмы – биodeграданты.....	32
2.2.5 Образцы придонного ила	33
2.3 Методы исследования.....	33
2.3.1 Стерилизация материалов	33
2.3.2 Приготовление питательных сред.....	34
2.3.3 Подготовка микроорганизмов – биodeградантов	34
2.3.4 Подготовка среды для биоразложения	36
2.3.5 Техника окраски по Граму	36
2.3.6 Контроль чистоты	36
2.3.7 Сканирующая зондовая микроскопия	39
3 Экспериментальная часть	40
3.1 Эксперимент в условиях отсутствия питательной среды	40
3.2 Эксперимент, имитирующий природные условия разложения	41
4 Результаты проведенного исследования	43
4.1 Эксперимент в условиях отсутствия питательной среды	43

4.2 Эксперимент, имитирующий природные условия разложения	46
5 Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение	54
5.1 Оценка коммерческого потенциала и перспективности проведения научных исследований с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения.....	54
5.1.1 Потенциальные потребители результатов исследования	54
5.1.2 Анализ конкурентных технических решений	55
5.2 SWOT-анализ.....	57
5.3 Планирование научно-исследовательских работ.....	59
5.3.1 Структура работ в рамках научного исследования	59
5.3.2 Определение трудоемкости выполнения работ	60
5.3.3 Разработка графика проведения научного исследования	62
5.4 Бюджет научно-технического исследования (НТИ)	65
5.4.1 Расчет затрат на специальное оборудование для научных (экспериментальных) работ.....	66
5.4.2 Основная заработная плата исполнителей темы.....	67
5.4.3 Отчисления во внебюджетные фонды (страховые отчисления)	69
5.4.4 Накладные расходы.....	70
5.4.4 Формирование бюджета затрат научно-исследовательского проекта	70
5.5 Определение ресурсной, финансовой, бюджетной и экономической эффективности исследования	71
6 Социальная ответственность	74
6.1 Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности	74
6.2 Производственная безопасность.....	76
6.2.1 Патогенные и условно патогенные микроорганизмы	77
6.2.2 Недостаток необходимого естественного освещения	78
6.2.3 Отклонения показателей микроклимата	78
6.2.4 Химические вредные вещества.....	79
6.2.5 Высокая температура материальных объектов лабораторной среды	80

6.2.6 Повышенное значение напряжения в электрической цепи, замыкание которой может произойти через тело человека	80
6.3 Экологическая безопасность.....	81
6.4 Безопасность в чрезвычайных ситуациях.....	82
Заключение	85
Список используемых источников.....	86
Приложение А	91
Приложение Б	92
Приложение В.....	95
Приложение Г	98
Приложение Д.....	100

Введение

Проблема накопления полимерных отходов и пластика в окружающей среде с каждым годом приобретает большие масштабы. В течение последних десятилетий проводятся работы по созданию новых композиционных составов для производства таких материалов, однако более распространенными остаются процессы изготовления и использования синтетических полимеров, достаточно устойчивых к физико-химическим воздействиям. Задачей, стоящей перед всей научной и производственной общественностью, является разработка методик, которые можно будет эффективно использовать в процессах утилизации искусственных полимеров. В настоящей работе проводились исследования биоразлагающего влияния микроорганизмов на полимерные структуры. Постановка экспериментов осуществлялась в лаборатории Биотехнологии НОЦ им. Н.М. Кижнера ИШНПТ ТПУ.

Цель: изучить биоразложение различных видов пластика с участием микроорганизмов.

Задачи:

1. Изучить динамику протекания процесса биодеструкции в модельных средах с различными параметрами;
2. Выявить закономерности влияния микроорганизмов на внешние свойства пластиков;
3. Изучить зависимость эффективности протекания процесса биодеструкции от природы пластика и его размерных параметров;
4. Предположить оптимальные условия биоразложения и принципы управления процессом утилизации пластика и полимерных отходов с использованием микроорганизмов;
5. Провести оценку ресурсной, финансовой и бюджетной эффективности, а также производственной и экологической безопасности проекта.

1 Обзор литературы

1.1 Проблема загрязнения полимерными отходами и пластиками

Население планеты неумоно растёт. И каждый человек нуждается в наборе базовых вещей. Большая часть вещей, которые используются человечеством изо дня в день, представляет собой различные типы металлов и пластиков. Но что случается с тем, что становится не нужным? Около 90% металлов перерабатываются или используются для иных целей [1]. Но вопрос переработки пластика стоит очень остро. Несмотря на усиленные старания человечества, только 9% всего пластика, используемого *ежедневно*, проходит вторичную обработку, большая часть складировается или захоранивается [2]. Так происходит, согласно распространённому заблуждению потому, что пластик – одноразовый материал, имеет низкую ценность, не может быть переработан или использован повторно, не принося вреда окружающей среде. Однако оказывается, что пластики намного ценнее металлов. Единственная причина, по которой человечество оказалось поглощенным полимерными отходами – недостаточно развитые и распространённые технологии в области переработки. Методики, которые являются применимыми для разделения металлов, не являются рабочими для решения данной проблемы. Полимеры (и пластики) имеют близкие значения плотностей, практически идентичные магнитные и электрические свойства и различные их типы могут быть различного цвета [3]. Поэтому для этого вопроса необходимо альтернативное решение. Такой материал дешев, долговечен, гибок в применении и достаточно широко распространён. Положительным аспектом является то, что существует ещё что-то, что так же дёшево, долговечно, гибко в применении и находится повсюду. И наша работа показывает, что оно может помочь в решении проблемы антропогенного загрязнения планеты полимерами и их отходами.

Такое альтернативное решение – это микроорганизмы. Микроскопическое живое существо может жить где угодно, во всех разнообразных и экстремальных условиях окружающей среды, начиная с человеческих внутренних органов, кожных покровов, заканчивая пустыней и океаном. К тому же, микроорганизмы

являются достаточно изобретательными в вопросе пищевых ресурсов для обеспечения своей жизнедеятельности. Сейчас, осознавая, что человечество производит около 300 миллионов тонн пластиковых отходов ежегодно, можно сказать, что это число практически сравнимо с популяцией микроорганизмов на планете [4]. Способность бактериальной клетки атаковать и деградировать полимеры и пластики зависит от самой структуры материала.

1.2 Виды пластика

Для начала следует отметить, что «полимером» называется сырьевой материал, который будет использован в производстве, а готовый продукт имеет название «пластик». Разнообразие синтетических полимеров в настоящее время достаточно велико. Многие из них применяются для изделий, обладающих коротким жизненным циклом, к примеру, изготовления разнообразных упаковочных материалов. И, как правило, такая полимерная оболочка отправляется в отход намного раньше, чем теряет свои потребительские свойства. Так как её жизненный цикл определён сроком годности или сроком службы товара, заключённого в упаковочный материал. Упаковка в современном обществе выполняет множество функций. И если образование системы связи между производителем, продавцом и потребителем является наиболее понятной и очевидной, то экологическая функция часто игнорируется. Она заключается в рациональном использовании обществом упаковки, что соотносится с требованием, предъявляемым к подобному роду материалов: не наносить существенного вреда окружающей среде при использовании и процессе утилизации [5]. Выбор методов обработки, а также специфических добавок имеют определяющее значение для свойств материала. Существует два принципа разделения полимеров: на термопластичные и термореактивные, а также на потребительские и технические [5].

Существенным отличием термореактивных материалов от термопластичных является то, что они представляют собой неполностью полимеризованные продукты. Переработка и утилизация в большей степени применима для второго типа полимеров, что делает их более приемлемыми для

упаковочных целей. Термореактивные материалы не могут быть использованы повторно.

Рассмотрим самые распространённые типы полимеров, которые применяются для упаковки продуктов [6]:

- Полиэтилен
 - Высокой плотности ПЭВП/HDPE
 - Низкой плотности ПЭНП/LDPE
- Полиэтилентерефталат ПЭТ/PETE/PET
- Поливинилхлорид ПВХ/PVC/V
- Полипропилен ПП/PP
- Полистирол ПС/PS

Полиэтилены. Получают полимеризацией этиленового газа под давлением или повышенной температуре с применением металлических катализаторов [7].

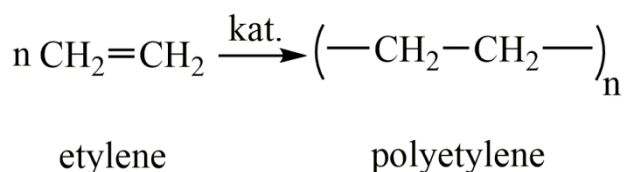


Схема 1.1 Реакция получения полиэтилена [8].

Такие материалы могут иметь одинаковые значения молекулярного веса. На их свойства оказывает влияние характер разветвления боковой цепи. Особая разница наблюдается в значениях плотности. Молекулы *линейной* структуры обладают способностью уплотниться компактно, образуя ПЭВП (значения плотности 0,941 – 0,959 г/см³), а *разветвлённые* молекулярные цепочки препятствуют такому тесному уплотнению, в результате получается ПЭНП (0,910 – 0,925 г/см³) [9].

ПЭВП является стойким к химическим веществам, а также проявляет относительную масло- и жиростойкость [10]. Чаще используется для изготовления технических изделий [5]. Выдерживает температурный диапазон от -80 до +110°C [11].

ПЭНП может сохранять прочность при достаточно низких температурах (до -70°C), химически стоек, однако подвержен влиянию масла и жира, является водо- и паронепроницаемым [5], [12]. Широко применяется для изготовления тары – бочек, сосудов, канистр, с целью осуществления транспорта и хранения растворов кислот и щелочей [5]. Однако ПЭНП пропускает газы, тем самым должен быть ограниченно использован для продуктов, имеющих тенденцию к окислению [12]. Также применяется в медицине, для производства игрушек и пищевой промышленности в качестве плёнки для упаковки продуктов [13].

Полиэтилены являются полимерами, поддающимися переработке во «вторичную гранулу» [14].

Полиэтилентерефталат. Получают в результате реакции полимеризации терефталевой кислоты и этиленгликоля [7].

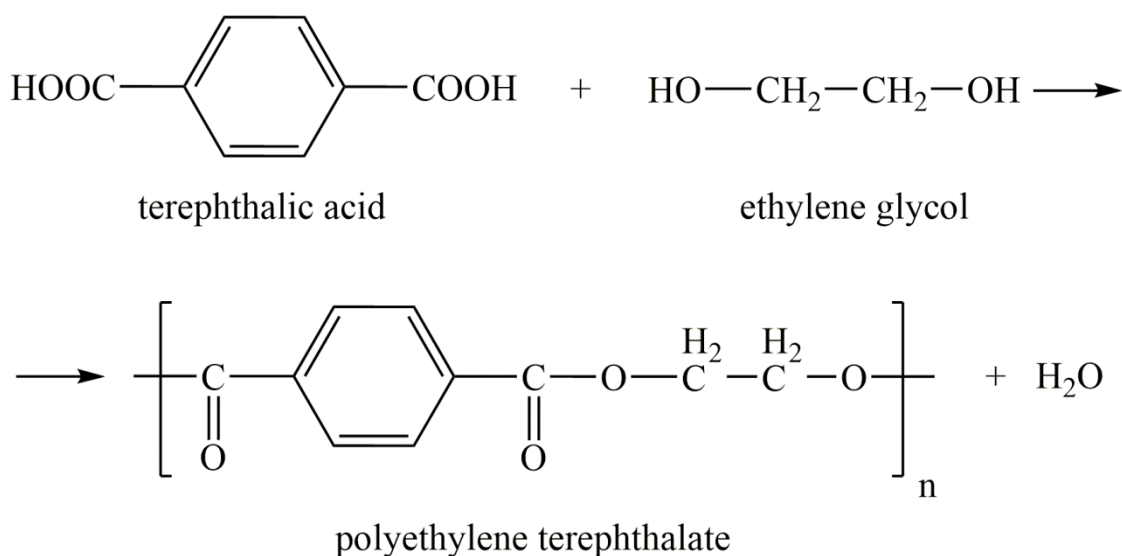


Схема 1.2 Реакция получения полиэтилентерефталата [8].

Наличие кислорода в структуре вещества придаёт материалу способность выдерживать низкие температуры, а бензольного кольца – высокие [5]. Данный полимер не растворяется в воде и в растворах слабых кислот, является практически газонепроницаемым [6]. Масло- и жиростоек [15]. Материал безвреден только для недлительного хранения без нагрева, без воздействия прямых солнечных лучей [16]. Самое распространённое применение ПЭТ в качестве сырья для производства пластиковых бутылок [17]. Именно этот вид отходов потребления является самым распространённым в мире [18].

Может быть вторично переработан. Образующиеся продукты используются в качестве кровельных материалов, лент для упаковки, плиток [19].

Поливинилхлорид. Образуется в результате полимеризации газообразного синтетического винилхлорида [7].

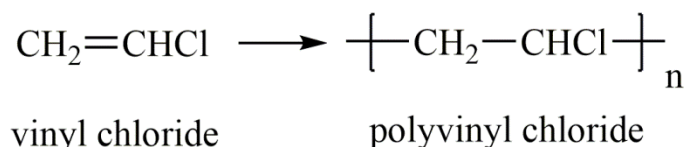


Схема 1.3 Реакция получения поливинилхлорида [8].

Использование различных типов пластификаторов позволяет получить разнообразные виды плёнок: твёрдые, мягкие, растяжимые и хрупкие [5]. При отсутствии пластификатора в составе применяются стабилизаторы, чтобы предотвратить частичное разложение с выделением HCl. Толстые пленки ПВХ применяются для изготовления упаковок бытовой химии, смазочных масел [6]. Данный материал не является устойчивым к нагреванию, имеет тенденцию легко распадаться, поэтому процесс вторичной переработки представляет трудности [14]. Использование хлорсодержащих полимеров критикуется экологами [5]. Многие производители перешли на применение ПЭТ при производстве пластиковых бутылок, блистеров.

Полипропилен. Является полимеризированным продуктом газообразного пропилена [7].

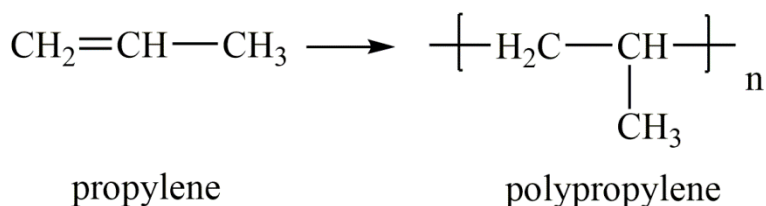


Схема 1.4 Реакция получения полипропилена [8].

По свойствам данный материал схож с ПЭВП, однако имеет улучшенные характеристики в масло- и жиростойкости, механической плотности [10]. По сравнению с ПЭ обладает невысокой способностью выдерживать низкие температуры [11]. Водонепроницаем, не пропускает кислород [10]. Ввиду того, что ПП имеет высокую температуру плавления (~170°C), продукты,

Полистирол. Продукт полимеризации жидкого синтетического стирола [7].



Химически устойчив к кислотам и щелочам [6]. Полистирол, полученный методом вспенивания, широко встречается в качестве материала для изготовления одноразовой посуды, защитной и термоформовочной упаковки – подносы для яиц, лотки для мяса, птицы и рыбы [9].

Отрицательной чертой современного состояния индустриализации является повышенное количество отходов, негативно воздействующих на конкретные части окружающей среды и на биосферу планеты в целом. Антропогенное загрязнение, подкреплённое потребительским отношением и низким процентом переработки, складывается из отходов производства и потребления. Процент полимеров/пластика в этом объеме составляет до 40% [19].

Рассмотрим, что же входит в понятие «отход». *Отход* - продукт, получаемый в результате человеческой жизнедеятельности на различных уровнях – быт, транспорт, промышленность, не используемый непосредственно на месте своего образования, однако имеющий потенциал быть примененным в других отраслях в нативном или переработанном виде [20]. Данный термин может быть подразделен на отходы потребления и коммунальные отходы. Те и другие, вследствие ненадлежащей, с точки зрения экологии, методики складирования и утилизации имеют дестабилизирующее воздействие на окружающую среду.

Существует концепция управления отходами в комплексе, основу которой составляют [19]:

- 1) Применение индивидуальных методов обращения для различных компонентов твердых коммунальных отходов (ТКО);
- 2) Использование регуляторной системы с точки зрения правовых, экономических, организационно-управленческих, технико-технологических и обязательно-воспитательных аспектов;

Первый пункт описанного выше комплексного подхода предполагает отделение отходов, состоящих из различных компонентов, друг от друга и осуществление их утилизации наиболее экологичными и экономически целесообразными способами. Для осуществления положительных сдвигов в области управления отходами необходимо изменить взгляд на то, чем они являются. Традиционные подходы больше не могут самостоятельно работать с целью улучшения состояния экосистемы планеты. Микроорганизмы-деграданты отходов производства и потребления – это не панацея. В дополнение к уже существующим методам должны быть также организованы мероприятия, которые предполагают сокращения отходов «у источника», вторичную переработку и рециклинг или рекуперацию. Следует отметить, что наиболее эффективным решением проблемы антропогенного загрязнения является именно комбинация нескольких дополняющих друг друга комплексов мер и мероприятий, вместо использования одного, пусть даже самого современного.

Мерой устранения отходов на первоначальном этапе образования («у источника») является, к примеру, переход производителей и потребителей на использование продуктов и упаковки, произведенных из вторсырья или материалов, которые могут быть легко и безопасно утилизированы или переработаны.

Вторичная переработка позволяет более полно, рационально и осознанно использовать ресурсы, сокращать количество образующихся отходов производства, уменьшать число отходов потребления, тем самым вводя отрицательную динамику роста мусорных свалок и мусоросжигающих предприятий.

Переработка материалов, использующая методы компостирования, переплавки и исключая захоронение, делится на рециклинг и рекуперацию. Первый путь предполагает возвращение обработанного материала в тот же технологический процесс, второй – использование отходов после обработки или без неё в других процессах или для получения энергии [20].

Система комплексного управления отходами должна содержать в себе элементы гибкости, подвижности и последовательного развития. Это предполагает возможность адаптации к изменяющимся условиям технологических процессов, к характеру используемого сырья и материалов, а, так же получаемых отходов производства и потребления. Такая система должна учитывать базу результатов и опыт предшествующих методов с целью недопущения тех серьезных последствий, которые мы имеем на сегодняшний день. Так же важно обеспечивать более серьезную информационную просвещенность населения за счет воздействия на ведомства государственного контроля, руководителей предприятий, общественные организации и представителей СМИ.

Весь цикл обращения с отходами должен быть предусмотрен и описан проектно-конструкторской и технологической документацией для создающихся и для уже существующих предприятий. Базой должны явиться уже разработанные и/или новейшие технологические процессы в этой области.

Предполагается заключение договоров с лицензированными организациями, которые занимаются вторичной переработкой. Цепочка производственного цикла представляет собой несколько предприятий, где первые, в результате технологического процесса, имеют отход производства, который может быть переработан вторым предприятием и продан третьему, преобразующему и продающему готовый полезный товар потребителям.

1.4 Биотехнология и биодеструкция

Биотехнология – это симбиоз естественно-научного и инженерного знания, направленный на наиболее полное использование возможностей живых организмов или их производных с целью создания или модификации различных продуктов и процессов [5]. Применение данной науки в защите окружающей среды реализуется на базе биопрепаратов, имеющих в своем составе различные микроорганизмы, обладающие способностью деградировать (разлагать) вещества различной природы. Достаточно распространенными и известными примерами использования микроорганизмов, как регуляторов круговорота веществ в экосистемах, являются биомассы, разлагающие отмершие части растений, очищающие сточные воды, почвы, ликвидирующие разливы нефти и нефтепродуктов, извлекающие металлы из обедненных руд. Основным преимуществом такой методики является простота, эффективность, экономичность и относительная экологичность. В процессах биодеструкции также образуются побочные продукты и отходы, однако их количество значительно меньше по сравнению с иными способами. Важным моментом является продуманное использование выделившихся продуктов при брожении биомассы. Например, биогаза для извлечения энергии, применяемой для получения тепла, пара или электроэнергии [20].

Биологические методы для борьбы с отходами все чаще становятся применимы в России и за рубежом. Механизм обезвреживания схож с механизмами в процессах, которые были перечислены выше. Различные штаммы микроорганизмов имеют способность к разложению или усвоению в своей биомассе органических загрязнителей. Для мест, где совокупность

микроорганизмов сохранила жизнеспособность и разнообразие может быть применима *микробиодеградация* [21]. В случае нарушения естественного биоценоза искусственно вносятся культуры микроорганизмов. Для ускорения разложения веществ или накопления загрязнения в клетках так же используются растения и простейшие, такая способность организмов называется *биопоглощением* [22].

Система самоочищения, созданная природой, не в силах самостоятельно противостоять величине и темпам развития техногенного загрязнения. Поэтому необходимо дать этой системе толчок и создать благоприятные условия для протекания естественных механизмов нейтрализации отходов.

С целью улучшения эффективности жизнедеятельности аэробной микрофлоры на первом этапе реализуются простейшие механические способы обработки почвы, заселенной микроорганизмами: рыхление, вспашка, дискование [20]. На втором этапе могут быть применены более сложные технологии, заключающиеся в использовании ультразвука, электрокинетики, искусственной аэрации грунта [19]. Возможен вариант комбинации анаэробной и аэробной флоры, где для первых исключается естественная и принудительная аэрация. Третий этап заключается во внесении витаминов, минеральных удобрений, отходов сельского хозяйства, пищевой, деревообрабатывающей промышленности [19]. Засевания различными травяными, полукустарниковыми, злаковыми растениями. (Например, сорго, кормовой горох, донник, люцерна, овес, ячмень).

Снижение концентрации загрязняющих веществ в почве или воде увеличивает численность физиологических групп естественных микроорганизмов, на которых больше не действует токсический эффект. Таким образом, происходит значительная интенсификация метаболических процессов, позволяющая достаточно эффективно преобразовать отход в нейтральный продукт. Такая методика, применённая в искусственных условиях, носит название *биологическая рекультивация* [22]. Преимуществами данного процесса являются:

1. Экологическая безопасность;
2. Отсутствие больших энерго- и ресурсозатрат;
3. Относительная простота организации процесса;
4. Гибкость внутренних и внешних факторов системы.

Скорость разрушения полимерных материалов определяется происхождением, структурными особенностями и составом [23]. Очевидно, что у пластмасс, состоящих из компонентов близких к природным (хитина, переработанных целлюлозы и крахмала, различных полисахаридов) процесс биodeградации проходит достаточно просто и быстро. А для самых распространённых пластиков, 40% общего объема которых используется в упаковочных целях, биостойкость является одним из главных параметров. Основной компонент таких материалов – полимерная смола, для каждого вида имеет свои специфичные особенности, которые выражаются в:

1. Длине цепочки;
2. Боковой разветвленности и наличии функциональных групп;
3. Степени кристалличности.

С увеличением длины и разветвленности молекулы полимера, возрастает биостойкость материала [24]. Так, ПЭНП, представляющий собой линейную молекулу, подтверждён биоразложению больше, по сравнению с ПЭВП. Низкомолекулярные материалы тоже обладают таким преимуществом, однако молекулярная масса в меньшей степени влияет на стойкость. Другие стерические препятствия и «громоздкость» – наличие ароматических групп, гетероцепной характер молекулы, двойные связи так же отрицательно влияют на процесс микробиологического разложения. Это связано с затруднением пространственной доступности молекул вещества для микроорганизма-деструктора.

Следующий компонент в составе пластиков – это пластификаторы. Составляют от 30 до 50% массы материала. Являются менее биостойкими по сравнению с полимерными смолами. Представляют собой сложные эфиры органических кислот: фталевой, себациновой, олеиновой, адипиновой и других

[12]. Структура эфира имеет такое же влияние на степень разложения, как и в случае с полимерными смолами.

Наименьшую процентную составляющую имеют стабилизаторы: красители и наполнители. Естественная природа данных материалов положительно влияет скорость деструкции.

Произведя анализ негативных факторов, препятствующих биоразложению были предложены меры для увеличения биодоступности [24]: предварительная обработка для увеличения площади поверхности (к примеру, набухание материала), минимизация стерических препятствий в молекуле. Данные изменения приводят к улучшению процессов диффузии ферментов и низкомолекулярных активных частиц, выделяемых микроорганизмами.

Все большее распространение имеют пластмассы, способные к относительно быстрой и самостоятельной деструкции. По процессу создания их можно разделить на два класса:

- Синтезированные из растительного и нефтехимического сырья методом биотехнологии;
- Полученные на основе синтетических полимеров с использованием добавок, имеющих натуральную природу.

Процесс синтеза первого типа материалов (в основном из алифатических полиэфиров) достаточно затратен, к тому же, полимеры, полученные только из растительного сырья, имеют более низкие эксплуатационные характеристики по сравнению с синтетическими полимерами. А создание композиционных материалов, где искусственная часть отвечает за прочность, лёгкость, термическую устойчивость и другие физико-химические характеристики, а «натуральная» — обеспечивает процессы биоразложения, позволяет минимизировать затраты на синтез. Такие полимерные материалы имеют контролируемый срок службы, в общем случае считается, что биоразрушаемые пластмассы должны разложиться в земле или воде за срок от 6 месяцев до 1 года [19]. К добавкам, инициирующим разложение, относятся [19], [24]:

- Оксо-разлагающие добавки, являются катализаторами фотоокисления, представляют собой соли переходных металлов;
- Природные добавки: крахмал, лактоза, казеин, модифицированная целлюлоза, маннит и другие;
- Полигидроксиалканоаты, полилактиды, полученные биосинтетическим путём, их разрушение наступает только при определённых условиях.

Однако такие полимеры/пластики с приставкой «био-» имеют ряд ограничений. К примеру, производство фоторазрушающихся материалов должно предусматривать использование чувствительных к свету компонентов, чтобы полученный продукт значительно не снижал срок хранения товаров, был стабилен в свойствах на протяжении всего периода, не выделял вредных и токсичных веществ, не оказывал существенное влияние на себестоимость товара. Пластмассы с оксодобавками не смогут разрушиться на местах складирования отходов если будут значительно загромождены или экранированы от УФ-излучения. Большое процентное содержание крахмала хоть и является низкзатратной технологией, но существенно влияет на прочностные характеристики. К тому же при повторной переработке такого материала может происходить слипание частей, пенообразование, повышаться горючесть полимера [24].

Развитие технологии создания композиционных пластиков, имеющих способность к быстрому разложению в естественных условиях, очень важно в современном мире. Но вместе с этим, необходимо решить вопрос с отходами, состоящими из «обычного» пластика, которые создают огромную экологическую проблему на сегодняшний день. Для снижения этого количества, загрязняющих биосферу веществ, применимы различные комплексные подходы, в том числе и биodeградация микроорганизмами.

1.5 Микроорганизмы – биodeграданты и методы оценки способности пластиков (полимеров) к биоразложению

Биоразрушение – сложный физико-химический процесс, который протекает под действием биофакторов [23]. Использование микроорганизмов с целью

организации процессов утилизации и сокращения отходов имеет ряд преимуществ, которые проявляются в следующем:

- Простота физической организации генома биофактора;
- Высокая лабильность микроорганизмов как в естественных, так и в искусственных условиях;
- Использование доступного и дешевого сырья для проведения процесса;
- Протекание ферментативных процессов в легко организуемых условиях с достаточно высокой скоростью.

Однако, наравне с преимуществами, имеют место быть недостатки, выражающиеся в важности организации многокомпонентности питательных сред и в осложнении процесса управления и автоматизации системы разложения.

Процесс биodeградации может быть разделен на несколько этапов, где сначала биологическая среда диффундирует в полимер, затем происходит модификация химических связей, отвечающих более низкой стойкости, наряду с этим на полимер оказывают агрессивное воздействие экзоферменты и метаболиты микроорганизмов. Вместе с трансформацией структурных компонентов, происходит изменение физических свойств материала. Конечный этап характеризуется влиянием полимера на ту биологическую массу, которая являлась деструктором или на окружающую среду в целом [25]. Биофакторы разложения относятся к таким крупным систематическим группам как грибы и бактерии. Наиболее часто применимыми среди бактерий являются *Bacillus subtilis*, различные группы из рода *Pseudomonas*: *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. cholororaphis*, отдела *Cyanobacteria* и рода *Streptomyces* [25]. Микроскопические грибы-разрушители пластика относятся к родам *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* и другим [22]. Объединяющей чертой всех этих микроорганизмов – возможность обитания в почвенной среде.

В процессе биоразложения параллельно работают два механизма: адгезионный и ферментативный. Абсорбируясь на поверхности полимера/пластика и проникая в его толщу, микроорганизм вызывает механические разрушения материала. А действие ферментов переводит

пластмассу в растворимое состояние, где в процессе различных реакций: окисления, восстановления, гидролиза, декарбоксилирования и других, происходит образование низкомолекулярных соединений. Данные вещества могут использоваться микроорганизмом в качестве источников энергии и питания. Примерами наиболее активных внеклеточных ферментов являются лиазы, протеазы, гидролазы и оксидоредуктазы [26]. Эффективность функционирования того или иного фермента зависит от типа микроорганизма и условий протекания деградации (к примеру, pH среды).

Методы оценки способности полимеров/пластиков к биоразложению логически образуются из описанного выше механизма биодеструкции и имеют следующую классификацию [19]:

- Условия проведения процесса: естественные и искусственные;
- Длительность процесса: длительные и методы экспресс-оценки;
- Условия регламентированности: стандартизованные и нестандартизованные;
- Состав и свойства рассматриваемой системы: химический и микробиологический, pH, потребность в кислороде, оптимальный температурный режим, ростовые факторы и другие;
- Параметры, определяющие положительное протекание процесса: масса, деформационно-прочностные показатели, степень изменения структуры материала и другие.

В большинстве методик [19], [21], [22], [24], [25], [26], [27], [28] используется принцип добавления очень небольшого количества тестируемого вещества в большой объём инокулята. Также используется эталонное вещество, проявляющее способность к биodeградации. Оцениваемый продукт сравнивается с эталонным веществом. Процесс протекания биологического разложения фиксируется по измерению образовавшегося газа – метана или углекислого газа.

Метод Штурма. В данном подходе производится оценка газовыделения CO_2 в системе, содержащей полимер/пластик и активную суспензию микроорганизмов.

Метод компостирования. Является стандартизованным немецкими стандартами D5988-96 [29], D5509-96 [30]. Среда для биоразложения имеет более 2050 микроорганизмов: бактерий и грибов, где большую часть составляют первые. Компост – активная биологическая среда, полученная из твёрдых отходов. После помещения исследуемого материала, анализируется выделение CO_2 и изменение качества и ценности компоста.

Метод определения грибостойкости. Заключается в обработке полимеров/пластиков водной суспензией спор грибов и дальнейшем выдерживании с поддержанием оптимальных параметров для жизнедеятельности микроорганизмов.

Метод закапывания в почву. Является достаточно длительным процессом, стандартизован по ГОСТ 9.060-75 [31]. Образцы помещают в почву, имеющую достаточно высокую биохимическую активность на заданное время, определяемое условиями среды, климата, сезона. Наличие результатов оценивают по изменению физико-механических, структурных, молекулярных параметров.

Радиоизотопный метод. Относится к экспресс-методам. Полимеры/пластики обрабатывают суспензией, содержащей микроскопических грибов, затем выдерживают в атмосфере паров тритиевой воды и по интенсивности излучения образцов идентифицируют процесс накопления трития используя жидкостный сцинтилляционный счётчик [25].

2 Объекты и методы исследования

2.1. Объект исследования

Объекты исследования: пластик видов PET, PP, HDPE, LDPE.

2.2. Материалы исследования

Оборудование:

- бокс для стерильной работы (ламинарный шкаф);
- паровой автоклав Tuttnauer 2340 МК;
- бинокулярный микроскоп Primo star;
- термостат ТС 1-20, поддерживающий температуру 37°C;
- весы лабораторные KERN 440-33N;
- атомно-силовой микроскоп НаноЛаборатория Integra Prima NT MDT.

Посуда лабораторная стерильная:

- стеклянные пробирки, объем 10 мл;
- колбы круглодонные, объем 50 мл;
- культуральные флаконы, объем 150 мл;
- чашки бактериологические (Петри);
- автоматические дозаторы (пипетки) вместимостью до 1 мл;
- стандартные образцы *мутности бактерийных взвесей* 5-10 ед (Приложение Б).

Питательные среды для культивирования микроорганизмов (Приложение В):

- питательная среда Сабуро;
- МПБ (мясопептонный бульон);
- ГРМ-агар (гидролизат рыбной муки);
- вода дистиллированная стерильная.

Основные материалы:

- образцы пластика PET, HDPE, LDPE, PP размером 10×10 мм;
- измельчённая крошка PET размером 0,5×0,5 мм, мелко нарезанные LDPE и PP размером 3×3 мм;
- тепличный грунт (соответствует ГОСТ Р 53380-2009 [32]);

- лабораторные штаммы бактерий *Bacillus subtilis*, и гриба *Aspergillus niger*, полученные из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ) (Приложение Г); лабораторный штамм бактерий *Pseudomonas aeruginosa*, полученный из микробиологической лаборатории ТОКБ.
- дикий штамм гриба *Penicillium, spp.*;
- образцы придонного ила, взятого из реки Иня (Российская Федерация, Кемеровская область) в сентябре 2019 года, предоставлено ФИЦ УУХ по договору № 17.09-402/2019 (Приложение Д).

2.2.1 Питательные среды

Используемые в работе среды ГРМ-агар и МПБ являются общепотребительными и служат для культивирования большинства микробов. Питательная среда Сабуро предназначена для выращивания плесневых грибов и некоторых видов бактерий. Сводные данные о применяемых в работе питательных средах приведены в таблице 2.1.

Технология приготовления и стерилизации питательных сред представлена в пунктах 2.3.2 «Приготовление питательных сред» и 2.3.1 «Стерилизация материалов».

Таблица 2.1 – Информация об используемых питательных средах [33].

Название питательной среды	Состав	Характеристики	Срок хранения
ГРМ-агар	Панкреатический гидролизат рыбной муки – 12,0 г/л Пептон ферментативный – 12,0 г/л Натрий хлорид – 6,0 г/л Агар 10,0±2,0 г/л	Сухая: Гигроскопичный мелкодисперсный порошок светло-желтого цвета Готовая: Желтый цвет, прозрачная или слегка опалесцирует; рН 7,3±0,2	Сухая – 5 лет, приготовленная – 1 месяц, при температуре 2 – 8°C
МПБ	Панкреатический гидролизат рыбной муки – 12,0 г/л Пептон ферментативный – 12,0 г/л Натрий хлорид – 6,0 г/л	температура застывания от 30 до 37°C температура плавления не менее 80°C	
Сабуро	Глюкоза – 20,0 г/л Гидролизат казеина – 5,0 г/л Пептический перевар животной ткани – 5,0 г/л	Сухая: Гомогенный сыпучий желтый порошок Готовая: Светло-янтарная окраска, прозрачная рН 5,7±0,2	

2.2.2 Пластик

Информация об использованных видах пластика представлена в разделе 1 «Обзор литературы», пункт 1.2 «Виды пластика».

2.2.3 Грунт

Тепличный грунт из заводской упаковки использован в работе в качестве среды, моделирующей природные условия разложения полимерных материалов. В нестерильном виде данный материал богат естественной кокко-бациллярной микрофлорой, потенциально обладающей способностью к биоразложению.

Технология стерилизации грунта представлена в пункте 2.3.1 «Стерилизация материалов», оценка тинкториальных и морфологических свойств микробного сообщества грунта – в пункте 2.3.7 «Контроль чистоты».

2.2.4 Микроорганизмы – биодеграданты

Представленные в таблице штаммы бактерий *B. subtilis* и гриба *A. niger* являются лабораторными, полученными из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ) (Приложение Г); лабораторный штамм бактерий *P. aeruginosa* получена из микробиологической лаборатории ТОКБ. Гриб-аскомицет *Penicillium, spp* относится к диким штаммам, получен на влажном хлебе из муки хлебопекарной высшего сорта.

Методика культивирования представлена в пункте 2.3.3 «Подготовка микроорганизмов – биодеградантов».

Таблица 2.2 – Информация об используемых штаммах микроорганизмов [34]

Название микроорганизма	Описание	Культуральные свойства	Тинкториальные свойства	Морфологические свойства
<i>Bacillus subtilis</i>	Условно-патогенные бактерии, факультативные аэробы	ГРМ-агар: небольшие, блестящие, выпуклые, с мягкими неровными краями колонии; цвет окрашивания белый	Грам (+), сине-фиолетовое окрашивание	Прямые палочки размером 2-5×0,4-0,6 мкм
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Условно-патогенные бактерии, облигатные аэробы	ГРМ-агар: небольшие (2-5 мм), выпуклые, с неправильными и неровными краями S-колонии; среда окрашивается в сине-зеленый цвет	Грам (-), красное окрашивание	Прямые или изогнутые палочки размером 0,5-1,0×1,5-5,0 мкм

Продолжение таблицы 2.2

<i>Aspergillus niger</i>	Высшие плесневые грибы, аэробы	Сабуро: складчатая колония, конидиеношение черное.	-	Круглый конидий, заполненный черными спорами
<i>Penicillium</i> (дикий)	Грибы-аскомицеты, аэробы	Сабуро: светлая шерстистая колония с темными участками, споры окрашены в зеленый цвет.		Трехярусные кисточки с округлыми конидиями, заполненными зелеными спорами

2.2.5 Образцы придонного ила

Придонный ил представляет собой тонкозернистую мягкую горную породу из смеси минеральных и органических веществ, отлагающихся на дне водотоков и водоёмов [35]. Является естественной средой для обитания микрофлоры акватории. Данное микробное сообщество обладает способностью к использованию загрязняющих воду веществ в качестве источников питания. В настоящей работе микрофлора придонного ила применялась в качестве деструктора и биотрансформатора полимерных материалов. Методика выделения и культивирования накопительных культур, являющимися обычными обитателями природного придонного ила представлена в пункте 2.3.3. «Подготовка микроорганизмов –биodeградантов».

2.3 Методы исследования

Для реализации практической части работы применялись методы исследования, представленные ниже.

2.3.1 Стерилизация материалов [36]

Стерилизацию материалов проводили в паровом автоклаве Tuttnauer 2340 МК. Чистую посуду, предварительно обернутую в бумагу, обрабатывали в течение 45 минут при температуре 134°C. Применение обертывания обусловлено потребностью в обеспечении эффективной защиты против контаминации во время хранения, после операций стерилизации. Питательные среды и дистиллированную воду обрабатывали в течение 15 минут при температуре 121°C. Емкости заполняли не более чем на 3/4 сосуда для предотвращения намокания пробок и потери обрабатываемых сред стерильности. Грунт

стерилизовали 20 минут при температуре 121°C. Для отработанных материалов и посуды использовали режим 45 минут, температура 134°C. Контролировали эффективность автоклавирования индикаторами Интест-П-134\5-02 и Интест-П-121\20-02.

2.3.2 Приготовление питательных сред

Так как все используемые питательные среды являлись коммерческими препаратами, готовили их согласно инструкции на упаковке, разливали по флаконам через ватно-марлевый фильтр и стерилизовали, как приведено в пункте 2.3.1 «Стерилизация материалов», затем охлаждали до температуры (45 – 50)°С. ГРМ-агар и среду Сабуро разливали в стерильные чашки Петри слоем 4 – 6 мм. После застывания среды чашки с застывшей средой подсушивали при температуре (37±1) °С в течение 40 – 60 мин.

2.3.3 Подготовка микроорганизмов – биодеградантов

Бактерии *B. subtilis* и *P. aeruginosa* пересекали от лабораторных штаммов на стерильную среду ГРМ-агар на стерильные чашки Петри. Культивирование проводили в термостате при температуре 37°C и влажности 45-50% в течение 48 часов, результат процесса представлен на фото 2.1.

Для получения рабочей культуры лабораторный штамм *A. niger* пересекали на стерильную среду Сабуро с использованием стерильных чашек Петри. Процесс культивирования так же осуществляли в термостате при температуре 37°C и влажности 45-50% в течение 7 дней до образования тёмных спор гриба, внешний вид представлен на фото 2.1.

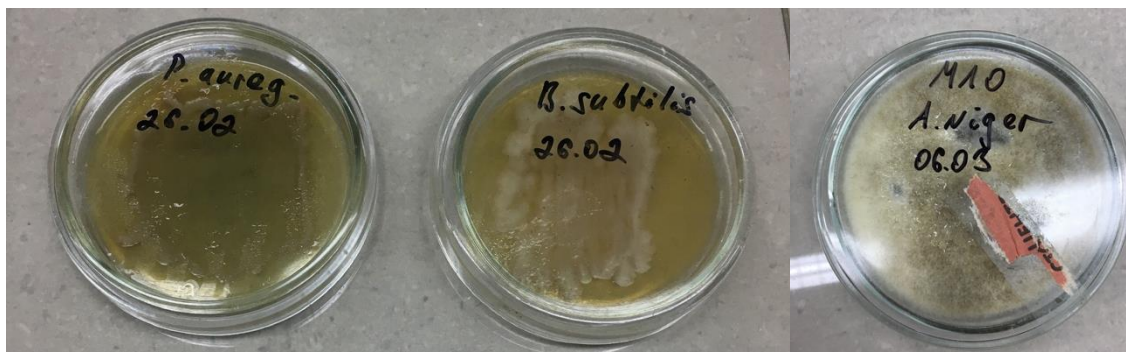


Фото 2.1 Получение рабочих штаммов *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *A. niger* после культивирования лабораторных образцов

Дикий штамм *Penicillium* идентифицировали по морфологическим, тинкториальным и культуральным свойствам. Выращивание проводили на влажном хлебе из муки хлебопекарной высшего сорта в течение 72 часов при температуре 37°C и влажности 45-50%, внешний вид представлен на фото 2.2

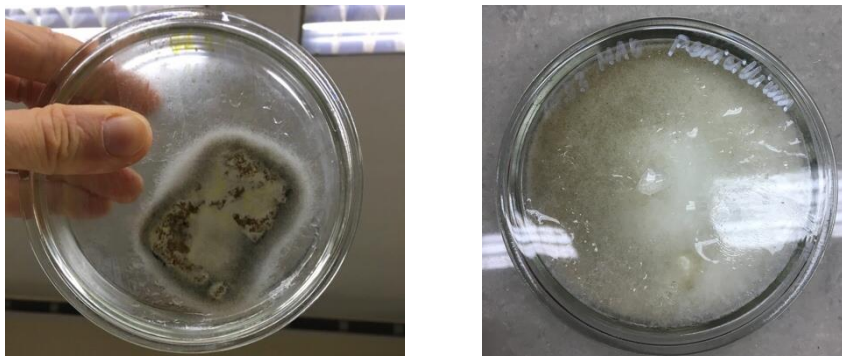


Фото 2.2 Дикий штамм гриба *Penicillium*, *spp* после культивирования

Для получения накопительных культур, являющимися обычными обитателями природного придонного ила, использовали 10 образцов активного ила. Посев производили на стерильную плотную среду Сабуру, в стерильные чашки Петри. Культивирование проводили в термостате при температуре 37°C и влажности 45-50%, в течение 7 суток.

После указанного срока, проводили пересев культуры микроорганизмов на стерильную питательную среду Сабуру. Повторный пересев делали для получения микроорганизмов, освобождённых от частиц активного ила. Образец проведенных пересевов представлен на фото 2.3.

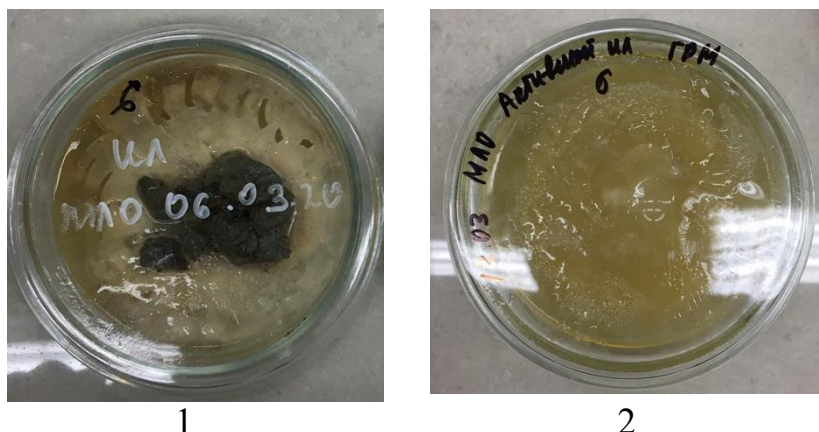


Фото 2.3 Чашки Петри с дикими культурами микроорганизмов, выделенных из активного ила.

1 – Первый посев: содержит активный ил и выделенную культуру микроорганизмов;

2 – Повторный пересев: содержит выделенную культуру микроорганизмов без частиц активного ила.

2.3.4 Подготовка среды для биоразложения

Тепличный грунт разделили на три части весом 15 г, две из которых поместили в чашки Петри и стерилизовали в автоклаве при 121°C в течение 20 минут, одну часть грунта брали в нестерильном виде.

2.3.5 Техника окраски мазков по Граму [37]:

1) На фиксированный препарат помещали полоску фильтровальной бумаги и на нее наносили раствор генцианвиолета на 1 – 2 мин;

2) Краситель и фильтровальную бумагу сливали и препарат обрабатывали в течение 1 мин раствором Люголя;

3) Раствор Люголя сливали и на препарат наносили на 30 сек 95% этанол (или ацетон);

4) Промывали водой, воду сливали и препарат докрашивали дополнительным красителем (водным фуксином) в течение 1 – 2 мин;

5) Промывали водой, высушивали и микроскопировали.

2.3.6 Контроль чистоты

Оценку соответствия культуральных, тинкториальных и морфологических свойств микроорганизмов проводили на основе таблицы 2.2, пункта 2.2.4 «Микроорганизмы – биодеграданты».

Для подтверждения чистоты полученных лабораторных штаммов бактерий *B. subtilis* и *P. aeruginosa* использовали иммерсионную микроскопию, увеличение $\times 1000$, для лабораторного штамма гриба *A.niger* и дикого штамма гриба *Penicillium, spp.* готовили препарат «раздавленная капля», микроскопировали с увеличением $\times 400$.

Для идентификации морфологии дикой микрофлоры грунта и образцов придонного ила использовали иммерсионную микроскопию, увеличение $\times 1000$. Внешний вид микроорганизмов, полученных из нестерильного грунта приведен

на фото 2.4. Представляет собой кокко-бациллярную микрофлору, имеющей как грамположительные, так и грамотрицательные микроорганизмы.

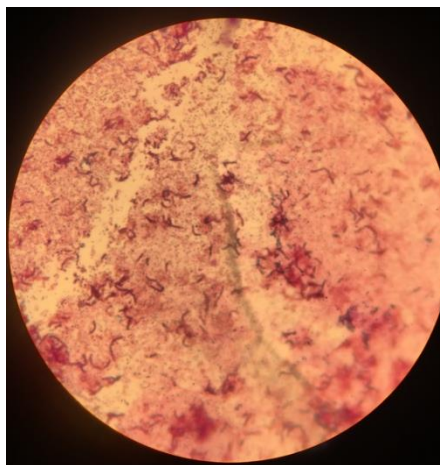
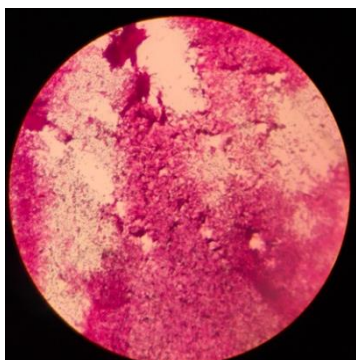
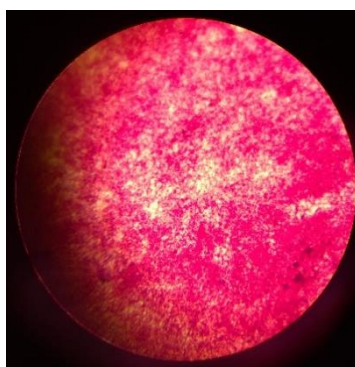


Фото 2.4 Мазок из нестерильного грунта под микроскопом, ув. $\times 1000$, окраска по Граму.

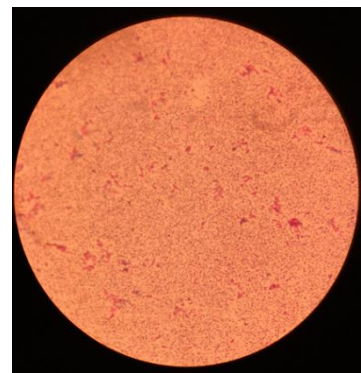
Морфология микрофлоры, полученной из образцов придонного ила, представлена на фото 2.5. Результаты микроскопии занесены в таблицу 2.3.



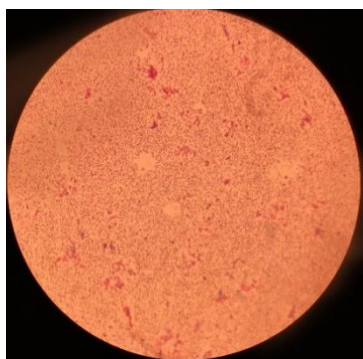
1



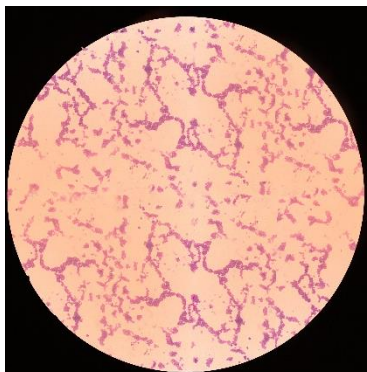
2



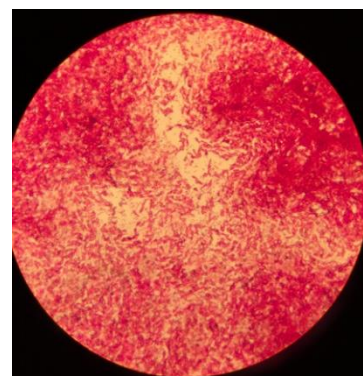
3



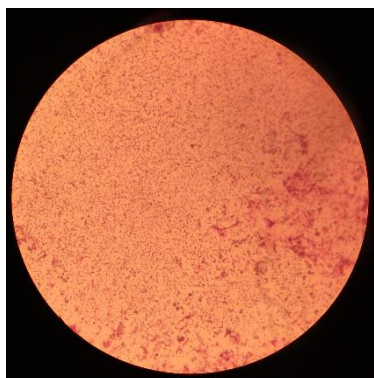
4



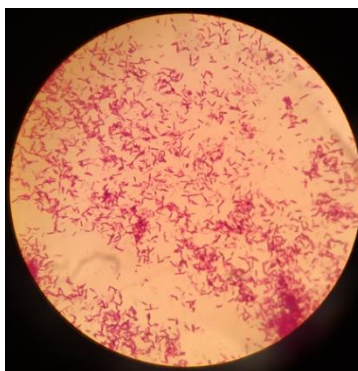
5



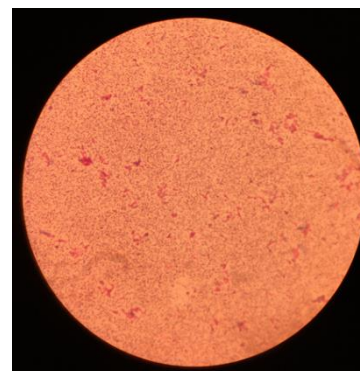
6



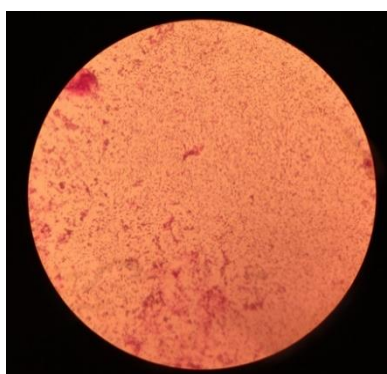
7



8



9



10

Фото 2.5 Препараты для микроскопии, окраска по Граму.

Таблица 2.3 – Результаты иммерсионной микроскопии образцов активного ила

	Грам(+), сине-фиолетовое окрашивание	Грам(-), красное окрашивание
№	Морфологические и тинкториальные свойства	
1	Г(+) кокки, стрептококки, спорообразующие клетки, располагаются поодиночке (кокко-бациллярная микрофлора)	
2	Крупные агломераты Г(+) кокков, одиночные Г(+) кокки, одиночные Г(-) палочки, располагающиеся хаотично	
3	Г(+) кокки, стрептококки, спорообразующие клетки, располагаются поодиночке (кокко-бациллярная микрофлора)	
4	Г(+) кокки, стрептококки, спорообразующие клетки, располагаются поодиночке (кокко-бациллярная микрофлора)	
5	Г(+) кокки, располагающиеся гроздьями (стафилококки)	
6	Г(+) кокки, стрептококки, спорообразующие клетки, располагаются поодиночке, единичные, одиночные Г(-) палочки, располагающиеся хаотично	
7	Г(+) кокки, стрептококки, спорообразующие клетки, располагаются поодиночке, единичные, одиночные Г(-) палочки, располагающиеся хаотично	

Продолжение таблицы 2.3

8	Крупные агломераты Г(+) палочек, одиночные Г(+) палочки, располагающиеся хаотично
9	Г(+) кокки, стрептококки, спорообразующие клетки, располагаются поодиночке (кокко-бациллярная микрофлора)
10	Г(+) кокки, стрептококки, спорообразующие клетки, располагаются поодиночке, единичные, одиночные Г(-) палочки, располагающиеся хаотично

2.3.7 Сканирующая зондовая микроскопия

Применяли модульную сканирующую зондовую систему Integra Prima NT MDT для оценки степени биodeградации полимерных материалов. Работу проводили совместно с лабораторией зондовой микроскопии НИ ТПУ, настройку устройства и программного обеспечения осуществляли специалисты лаборатории. Микроскопировали образцы до и после обработки лабораторными штаммами бактерий *B. subtilis*, *P. aeruginosa* и гриба *A. niger*.

5 Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение

Целью данного раздела является оценка коммерческой ценности научного исследования. Такой анализ является необходимым условием при поиске источников финансирования для проведения научно-исследовательских работ и коммерциализации полученных результатов. Это важно для представления состояния и перспектив проводимых исследований.

Для достижения цели раздела «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение» были решены следующие задачи:

- оценка коммерческого потенциала и перспективности проведения научных исследований;
- определение возможных альтернатив инженерных решений для рассматриваемой проблемы, отвечающих современным требованиям в области ресурсоэффективности и ресурсосбережения;
- планирование научно-исследовательской работы;
- определение ресурсной, финансовой, бюджетной и экономической эффективности исследования.

Целью данной выпускной квалифицированной работы является изучение биоразлагающего действия микроорганизмов на полимерные отходы, с возможностью дальнейшего использования данных для разработки более дешевого и эффективного метода утилизации отходов пластика.

5.1 Оценка коммерческого потенциала и перспективности проведения научных исследований с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения

5.1.1 Потенциальные потребители результатов исследования

Для анализа результатов исследования был рассмотрен целевой рынок и было произведено его сегментирование.

Целевой рынок – сегменты рынка, на котором будет продаваться в будущем разработка. В свою очередь, **сегмент рынка** – это особым образом выделенная часть рынка, группы потребителей, обладающих определенными общими признаками.

Целевой рынок для данной работы представлен промышленными предприятиями, полигонами ТКО и свалками, которые могут использовать результат научного исследования для совершенствования методик утилизации полимерных отходов.

Следует отметить, что рассматриваемый метод является наиболее экологически безопасным и дешевым среди существующих аналогов. Учитывая значительное количество полимерного мусора и рост тенденции на обеспечение экологической безопасности, эта работа отвечает перспективному направлению исследований в данной области.

		Сложность аппаратного оснащения		
		Низкий	Средний	Высокий
Стоимость	Низкая			
	Высокая			

Рисунок 5.1. Карта сегментирования рынка услуг относительно стоимости разработки бизнес-модели и сложности аппаратного оснащения:



5.1.2 Анализ конкурентных технических решений

Детальный анализ конкурирующих разработок, существующих на рынке, необходимо проводить систематически, поскольку рынки пребывают в постоянном движении. На основе полученной карты сегментирования рынка были рассмотрены способы переработки/утилизации пластика: биодegradация с помощью микроорганизмов, переработка пластиковых отходов во вторичную гранулу и пиролиз данных материалов.

С этой целью была использована вся имеющаяся информация о конкурентных разработках:

- технические характеристики разработки;
- конкурентоспособность разработки;

- бюджет разработки;
- уровень проникновения на рынок;
- финансовое положение конкурентов, тенденции его изменения и т.д.

Анализ конкурентных технических решений с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения позволяет провести оценку сравнительной эффективности научной разработки и определить направления для ее будущего повышения.

Оценочная карта представлена в таблице 5.1.

Таблица 5.1 – Оценочная карта для сравнения конкурентных технических решений (разработок)

Критерии оценки	Вес критерия	Баллы			Конкурентоспособность		
		Б _ф	Б _{к1}	Б _{к2}	К _ф	К _{к1}	К _{к2}
1	2	3	4	5	6	7	8
Технические критерии оценки ресурсоэффективности							
1. Потребность в материальных ресурсах	0,08	5	2	1	0,4	0,16	0,08
2. Простота эксплуатации	0,08	5	3	2	0,4	0,24	0,16
3. Экологичность	0,15	5	5	5	0,75	0,75	0,75
4. Надежность	0,08	3	5	5	0,24	0,4	0,4
5. Безопасность	0,1	3	3	2	0,3	0,3	0,2
6. Уровень шума	0,05	5	1	1	0,25	0,05	0,05
7. Функциональная мощность (предоставляемые возможности)	0,08	5	5	5	0,4	0,4	0,4
Экономические критерии оценки эффективности							
1. Конкурентоспособность продукта	0,05	4	4	4	0,2	0,2	0,2
2. Стоимость разработки	0,1	5	2	2	0,5	0,2	0,2
3. Предполагаемый срок эксплуатации	0,08	5	5	5	0,4	0,4	0,4
4. Финансирование метода	0,1	5	3	3	0,5	0,3	0,3
5. Срок выхода на рынок	0,05	3	4	4	0,15	0,2	0,2
Итого	1	53	42	39	4,49	3,6	3,34

Позиция разработки и конкурентов оценивалась по каждому показателю экспертным путем по пятибалльной шкале, где 1 – наиболее слабая позиция, а 5 – наиболее сильная. Веса показателей, определяемые экспертным путем, в сумме составляют 1.

Анализ конкурентных технических решений определялся по формуле:

$$K = B_i \cdot B_i, \quad (1)$$

где K – конкурентоспособность научной разработки или конкурента;

B_i – вес показателя (в долях единицы);

B_i – балл i -го показателя.

5.2 SWOT-анализ

SWOT – Strengths (сильные стороны), Weaknesses (слабые стороны), Opportunities (возможности) и Threats (угрозы) – представляет собой комплексный анализ научного исследования. SWOT-анализ был применён для внешней и внутренней среды работы.

Итоговая матрица SWOT-анализа приведена в таблице 5.2.

Таблица 5.2 – SWOT-анализ

	<p>Сильные стороны:</p> <p>С1. Экономичность и энергоэффективность.</p> <p>С2. Экологичность.</p> <p>С3. Более низкая стоимость реализации по сравнению с другими технологиями.</p> <p>С4. Техническая простота осуществления метода.</p> <p>С5. Относительная безопасность технологии.</p> <p>С6. Энергоемкость.</p> <p>С7. Невысокий уровень трудозатрат.</p> <p>С8. Наличие бюджетного финансирования.</p> <p>С9. Наличие потенциальных потребителей инженерного решения на базе научного исследования</p> <p>С10. Наличие производственной компании, способной использовать инженерное решение</p>	<p>Слабые стороны:</p> <p>Сл1. Отсутствие прототипа научной разработки.</p> <p>Сл2. Непростые методики для детектирования процесса разложения пластика.</p> <p>Сл3. Длительность процесса утилизации пластика.</p> <p>Сл4. Возможность разнородности результатов при идентичности проведения методики.</p>
--	---	---

Продолжение таблицы 5.2

<p>Возможности:</p> <p>В1. Использование инновационной инфраструктуры ТПУ.</p> <p>В2. Появление дополнительного спроса на разработанную методику утилизации пластика.</p> <p>В3. Снижение таможенных пошлин на сырье и материалы, используемые при реализации результатов научного исследования.</p> <p>В4. Повышение стоимости конкурентных технологий.</p> <p>В5. Возрастание проблемы утилизации полимерных отходов.</p> <p>В6. Повышение потребности в биогазе, полученном в процессе биоразложения.</p>	<p>В2В4 С1С2С3С4С5С6С7С8С9С10</p> <p>Использование разработанных технологий для экологичного и низкозатратного метода утилизации полимерных отходов на предприятиях, полигонах ТКО и свалках</p>	<p>Наличие данных возможностей поможет преодолеть слабые стороны технологии и осуществить реализацию разработанного инженерного решения</p>
<p>Угрозы:</p> <p>У1. Отсутствие спроса на новые технологии утилизации.</p> <p>У2. Развитая конкуренция технологий утилизации.</p> <p>У3. Ограничения на экспорт технологии.</p> <p>У4. Введение дополнительных государственных требований к сертификации методики.</p> <p>У5. Несвоевременное финансовое обеспечение научного исследования со стороны государства.</p>	<p>У1У2С1С2С3С4С5С6С7С8</p> <p>Угрозы низкого уровня спроса на разработанное инженерное решение и развитой конкуренции могут быть преодолены рядом сильных сторон технологии утилизации. Относительное преимущество поможет технологии найти своего потребителя.</p> <p>У3С8С9С10</p> <p>Ограничение на экспорт может быть нивелировано активным использованием технологии отечественными производствами</p> <p>У4У5С1С2С3С4С6С7С9С10</p> <p>Ужесточения требований сертификации на фоне активного потребительного спроса и экономической выгоды технологии не будут иметь существенное значение, а низкое финансовое обеспечение со стороны государства может быть перекрыто интересом коммерческих предприятий.</p>	<p>Объединение угроз и слабых сторон технологии могут привести к невостребованности результатов научного исследования.</p>

5.3 Планирование научно-исследовательских работ

5.3.1 Структура работ в рамках научного исследования

Планирование комплекса предполагаемых работ осуществляется в следующем порядке:

- определение структуры работ в рамках научного исследования;
- определение участников каждой работы;
- установление продолжительности работ;
- построение графика проведения научных исследований.

Для выполнения научных исследований формируется рабочая группа, в состав которой могут входить научные сотрудники и преподаватели, инженеры, техники и лаборанты, численность групп может варьироваться. По каждому виду запланированных работ устанавливается соответствующая должность исполнителей.

В данном разделе необходимо составить перечень этапов и работ в рамках проведения научного исследования, провести распределение исполнителей по видам работ. Примерный порядок составления этапов и работ, распределение исполнителей по данным видам работ приведен в таблице 5.3

Таблица 5.3 – Перечень этапов, работ и распределение исполнителей

Основные этапы	№ раб	Содержание работ	Должность исполнителя
Разработка технического задания	1	Составление и утверждение технического задания	Руководитель
Выбор направления исследований	2	Выбор направления исследования	Руководитель, биотехнолог
	3	Определение целей и задач исследования	Руководитель, биотехнолог
	4	Подбор и изучение материалов по теме	Биотехнолог
	5	Календарное планирование работ по теме	Биотехнолог

Продолжение таблицы 5.3

Теоретические и экспериментальные исследования	6	Составление плана и методик эксперимента	Руководитель, биотехнолог
	7	Проведение культивирования микроорганизмов	Биотехнолог
	8	Постановка эксперимента с микроорганизмами и пластиками в условиях отсутствия питательной среды	Биотехнолог
	9	Постановка эксперимента с микроорганизмами и пластиками в условиях, имитирующих природные	Биотехнолог
Обобщение и оценка результатов	10	Обработка и анализ полученных экспериментальных данных	Руководитель, биотехнолог
	11	Визуализация данных эксперимента и составление выводов	Биотехнолог
	12	Написание отчета	Биотехнолог
Контроль и координирование проекта	13	Контроль качества выполнения проекта	Руководитель

5.3.2 Определение трудоемкости выполнения работ

Трудовые затраты в большинстве случаях образуют основную часть стоимости разработки, поэтому важным моментом является определение трудоемкости работ каждого из участников научного исследования.

Трудоемкость выполнения научного исследования оценивалась экспертным путем в человеко-днях. Для определения ожидаемого (среднего) значения трудоемкости $t_{ожі}$ использовалась следующая формула:

$$t_{ожі} = \frac{3t_{\min i} + 2t_{\max i}}{5}, \quad (2)$$

где $t_{ожі}$ – ожидаемая трудоемкость выполнения i -ой работы чел.-дн.;

$t_{\min i}$ – минимально возможная трудоемкость выполнения заданной i -ой работы (оптимистическая оценка: в предположении наиболее благоприятного стечения обстоятельств), чел.-дн.;

$t_{\max i}$ – максимально возможная трудоемкость выполнения заданной i -ой работы (пессимистическая оценка: в предположении наиболее неблагоприятного стечения обстоятельств), чел.-дн.

Исходя из ожидаемой трудоемкости работ, определялась продолжительность каждой работы в рабочих днях T_p , учитывающая параллельность выполнения работ несколькими исполнителями.

$$T_{pi} = \frac{t_{ожі}}{Ч_i}, \quad (3)$$

где T_{pi} – продолжительность одной работы, раб. дн.;

$t_{ожі}$ – ожидаемая трудоемкость выполнения одной работы, чел.-дн.

$Ч_i$ – численность исполнителей, выполняющих одновременно одну и ту же работу на данном этапе, чел.

Рассчитали ожидаемое значение трудоемкости для руководителя на примере выполнения работы «Составление и утверждение технического задания»:

$$t_{ожс1} = \frac{(3 \cdot 2 + 2 \cdot 4)}{5} = 2,8 \quad (4)$$

Аналогично определили значение трудоемкости для биотехнолога на примере выполнения работы «Подбор и изучение материала по теме»:

$$t_{ожс4} = \frac{(7 \cdot 2 + 2 \cdot 14)}{5} = 9,8 \quad (5)$$

Продолжительность каждой работы в рабочих днях для одиночной и параллельной работы на примере «Составление и утверждение технического задания» и «Выбор направления исследования» соответственно:

$$T_{p_1} = \frac{2,8}{1} = 2,8 \quad (6)$$

$$T_{p_2} = \frac{4,8}{2} = 2,4 \quad (7)$$

$$T_{p_2} = \frac{4,2}{2} = 2,1 \quad (8)$$

5.3.3 Разработка графика проведения научного исследования

Ввиду небольшого объёма дипломной работы наиболее удобным и наглядным является построение ленточного графика проведения научных работ в форме диаграммы Ганта.

Диаграмма Ганта – горизонтальный ленточный график, на котором работы по теме представляются протяженными во времени отрезками, характеризующимися датами начала и окончания выполнения данных работ.

Для удобства построения графика, длительность каждого из этапов работ из рабочих дней перевели в календарные дни. Для этого воспользовались следующей формулой:

$$T_{ki} = T_{pi} \cdot k_{\text{кал}}, \quad (9)$$

где T_{ki} – продолжительность выполнения i -й работы в календарных днях;

T_{pi} – продолжительность выполнения i -й работы в рабочих днях;

$k_{\text{кал}}$ – коэффициент календарности.

Коэффициент календарности определили по следующей формуле:

$$k_{\text{кал}} = \frac{T_{\text{кал}}}{T_{\text{кал}} - T_{\text{вых}} - T_{\text{пр}}}, \quad (10)$$

где $T_{\text{кал}}$ – количество календарных дней в году;

$T_{\text{вых}}$ – количество выходных дней в году;

$T_{\text{пр}}$ – количество праздничных дней в году.

Все рассчитанные значения свели в таблицу 5.4

Таблица 5.4 – Временные показатели проведения научного исследования

Название работы	Трудоёмкость работ						Длитель ность работ в рабочих днях T_{pi}		Длительность работ в календарных днях T_{ki}	
	t_{min} , чел-дни		t_{max} , чел- дни		$t_{ожс}$, чел-дни					
	Биотехнолог	Руководитель	Биотехнолог	Руководитель	Биотехнолог	Руководитель	Биотехнолог	Руководитель	Биотехнолог	Руководитель
Составление и утверждение технического задания	-	2	-	4	-	2,8	-	2,8	-	4
Выбор направления исследования	4	3	6	6	4,8	4,2	2,4	2,1	4	3
Определение целей и задач исследования	4	3	6	6	4,8	4,2	2,4	2,1	4	3
Подбор и изучение материалов по теме	7	-	14	-	9,8	-	9,8	-	16	-
Календарное планирование работ по теме	2	-	4	-	2,8	-	2,8	-	4	-
Составление плана и методик эксперимента	7	5	14	14	9,8	8,6	4,9	4,3	7	6
Проведение культивирования м/о	5	-	7	-	5,8	-	5,8	-	9	-
Постановка эксперимента с м/о и пластиками в условиях отсутствия питательной	50	-	60	-	54	-	54	-	80	-
Постановка эксперимента с м/о и пластиками в условиях, имитирующих природные	50	-	60	-	54	-	54	-	80	-

Продолжение таблицы 5.4

Обработка и анализ полученных экспериментальных данных	25	-	30	-	27	-	27	-	40	-
Визуализация данных эксперимента и составление выводов	7	-	10	-	8,2	-	8,2	-	12	-
Написание отчета	30	-	40	-	34	-	34	-	50	-
Контроль качества выполнения проекта	-	2	-	4	-	2,8	-	2,8	-	4

На основе таблицы 5.4 построили календарный план-график.

Таблица 5.5 – Календарный план-график проведения НИОКР по теме

Вид работ	T _{кi}	Исполнители	Продолжительность выполнения работ									
			сен	окт	но я	дек	ян в	фе в	ма р	ап р	ма й	ию н
Составление и утверждение технического задания	4	Р	<div></div>									
Выбор направления исследования	4	Р, Б	<div></div>									
Определение целей и задач исследования	4	Р, Б	<div></div>									
Подбор и изучение материалов по теме	16	Б	<div></div>									
Календарное планирование работ по теме	4	Б	<div></div>									
Составление плана и методик эксперимента	7	Р, Б	<div></div>									
Проведение культивирования м/о	9	Б	<div></div>									

Продолжение таблицы 5.5

Постановка эксперимента с м/о и пластиками в условиях отсутствия питательной среды	80	Б										
Постановка эксперимента с м/о и пластиками в условиях, имитирующих природные	80	Б										
Обработка и анализ полученных экспериментальных данных	40	Б										
Визуализация данных эксперимента и составление выводов	12	Б										
Написание дипломной работы	50	Б										
Контроль качества выполнения проекта и консультирование исполнителя	7	Р										

Руководитель

Биотехнолог

5.4 Бюджет научно-технического исследования (НТИ)

При планировании бюджета НТИ должно быть обеспечено полное и достоверное отражение всех видов расходов, связанных с его выполнением.

Данная статья включает стоимость всех материалов, комплектующих изделий и полуфабрикатов, используемых при разработке проекта. В стоимость материальных затрат включены транспортно-заготовительные расходы – 3% от цены [39]. Данные представлены в таблице 5.7.

Таблица 5.6 – Сырьё, материалы, покупные изделия и полуфабрикаты (за вычетом отходов)

Наименование	Марка, размер	Кол-во	Цена за единицу, руб.	Сумма, руб.
Гидролизат рыбной муки (ГРМ агар)	0,25 кг	1	683,25	683,25
Мясопептонный бульон	0,25 кг	1	1781,25	1781,25

Продолжение таблицы 5.6

Питательная среда Сабуро	0,25 кг	1	1190,00	1190,00
Грунт для рассады	5 л	1	61,00	61,00
Образцы пластиков	0,05 кг	1	50,00	50,00
Матрасы для выращивания клеточных культур (Культуральные флаконы)	150 см ²	4	251,61	1006,44
Чашка Петри пласт. Д 60	Уп. 26 шт.	1	230	230,00
Колба К-2-50-14/23	ГОСТ	10	126,00	1260,00
Пробирка П-2-10-14/23	ГОСТ-1770 74, 10 мл	10	37,50	375,00
СО мутности бак. взвесей 5-10 ед.	СОП № 1-	1	2065	2065,00
Всего за материалы				8701,94
Транспортно-заготовительные расходы (3%)				261,06
Итого по статье С _м				8962,99

5.4.1 Расчет затрат на специальное оборудование для научных (экспериментальных) работ

В данной статье стоимость оборудования, используемого при выполнении работ и имеющегося в данной научно-технической организации, учтена в виде амортизационных отчислений. Расчет проводили по методу равномерного прямолинейного списания - стоимость списывается равномерными долями в течение периода эксплуатации. Данные сведены в таблице 5.7.

Таблица 5.7 – Спецоборудование для научных работ

№ п/п	Наименование оборудования	Кол-во единиц оборудования	Цена единицы оборудования, тыс. руб.	Срок службы, лет.	АО за период проведения НИР, тыс. руб.	Затраты на специальное оборудование, тыс. руб.
1	Термостат Электрический суховоздушный ТС-1/20 СПУ	1	14,5	10	0,464	0,464
2	Бокс биологической безопасности 2 класса Streamline SC2-4A1.	1	193,5	15	4,137	4,137

Продолжение таблицы 5.7

3	Автоклав паровой Tuttnauer 2340 МК	1	110,2	15	2,356	2,356
4	Микроскоп бинокулярный Primo star	1	70	20	1,122	1,122
Итого:						8,079

5.4.2 Основная заработная плата исполнителей темы

В настоящую статью включена основная заработная плата научных и инженерно-технического работников, непосредственно участвующих в выполнении работ по данной теме. Величина расходов по заработной плате определялась исходя из трудоемкости выполняемых работ и действующей системы окладов и тарифных ставок. В состав основной заработной платы включается премия, выплачиваемая ежемесячно из фонда заработной платы в размере 20 –30 % от тарифа или оклада.

Статья включает основную заработную плату работников, непосредственно занятых выполнением НИ, (включая премии, доплаты) и дополнительную заработную плату:

$$Z_{\text{зн}} = Z_{\text{осн}} + Z_{\text{доп}}, \quad (11)$$

где $Z_{\text{осн}}$ – основная заработная плата;

$Z_{\text{доп}}$ – дополнительная заработная плата (12-20 % от $Z_{\text{осн}}$).

Основная заработная плата ($Z_{\text{осн}}$) одного работника рассчитывается по следующей формуле:

$$Z_{\text{осн}} = Z_{\text{он}} \cdot T_p, \quad (12)$$

где $Z_{\text{осн}}$ – основная заработная плата одного работника;

T_p – продолжительность работ, выполняемых работником, раб. дн;

$Z_{\text{он}}$ – среднедневная заработная плата работника, руб.

Среднедневная заработная плата рассчитывается по формуле:

$$Z_{\text{дн}} = \frac{Z_{\text{м}} \cdot M}{F_{\text{д}}}, \quad (13)$$

где $Z_{\text{м}}$ – месячный должностной оклад работника, руб.;

M – количество месяцев работы без отпуска в течение года:

при отпуске в 24 раб. дня $M=11,2$ месяца, 5-дневная неделя;

при отпуске в 48 раб. дней $M=10,4$ месяца, 6-дневная неделя;

$F_{\text{д}}$ – действительный годовой фонд рабочего времени научно-технического персонала, раб. дн. (таблица 5.8).

Месячный должностной оклад работника:

$$Z_{\text{м}} = Z_{\text{мс}} \cdot (1 + k_{\text{пр}} + k_{\text{д}}) \cdot k_{\text{р}}, \quad (14)$$

где $Z_{\text{мс}}$ – заработная плата по тарифной ставке, руб.;

$k_{\text{пр}}$ – премиальный коэффициент, равный 0,3 (т.е. 30% от $Z_{\text{мс}}$);

$k_{\text{д}}$ – коэффициент доплат и надбавок составляет примерно 0,2 – 0,5;

$k_{\text{р}}$ – районный коэффициент, равный 1,3 (для Томска).

Тарифная заработная плата $Z_{\text{мс}}$ определена из произведения тарифной ставки работника 1-го разряда $T_{\text{с1}} = 600$ руб. на тарифный коэффициент $k_{\text{т}}$ и учитывается по единой для бюджетных организации тарифной сетке. Расчёт основной заработной платы приведён в таблица 5.9.

Месячный должностной оклад для руководителя:

$$Z_{\text{м}} = 26300 \cdot (1 + 0,3 + 0,2) \cdot 1,3 = 51285 \quad (15)$$

Месячный должностной оклад для биотехнолога:

$$Z_{\text{м}} = 17000 \cdot (1 + 0,3 + 0,2) \cdot 1,3 = 33150 \quad (16)$$

Рассчитали среднедневную заработную плату для руководителя при условии 6-дневной рабочей недели:

$$Z_{\text{дн}} = (51285 \cdot 10,4) / 246 = 2168,2 \quad (17)$$

Рассчитали среднедневную заработную плату для биотехнолога при условии 5-дневной рабочей недели:

$$Z_{\text{дн}} = (33150 \cdot 11,2) / 213 = 1743,09 \quad (18)$$

Тогда основная заработная плата для руководителя:

$$Z_{\text{осн}} = 2168,2 \cdot 14 = 30354,8 \quad (19)$$

Основная заработная плата для биотехнолога:

$$Z_{осн} = 1743,09 \cdot 205 = 357336,2 \quad (20)$$

Таблица 5.8 – Баланс рабочего времени

Показатели рабочего времени	Руководитель	Биотехнолог	
Календарное число дней	365	365	
Количество нерабочих дней - выходные дни - праздничные дни	52/14	104/14	
Потери рабочего времени - отпуск - невыходы по болезни		48/5	24/10
Действительный годовой фонд рабочего времени		246	213

Таблица 5.9 – Расчёт основной заработной платы

Исполнители НИ	$Z_{тс}$, руб.	$k_{пр}$	k_d	k_p	Z_m , руб.	$Z_{дн}$, руб.	T_p , раб. дн.	$Z_{осн}$, руб.
Руководитель	26300	0,3	0,2	1,3	51285	2168,2	14	30354,8
Инженер	17000	0,3	0,2	1,3	33150	1743,1	205	357335,2
Итого $Z_{осн}$					387690			

Произвели расчёт дополнительной заработной платы для работников с условием принятого коэффициента дополнительной заработной платы, равного 0,15.

Для руководителя:

$$Z_{дон} = 30354,8 \cdot 0,15 = 4553,22 \quad (21)$$

Для биотехнолога:

$$Z_{дон} = 357335,2 \cdot 0,15 = 53600,28 \quad (22)$$

5.4.3 Отчисления во внебюджетные фонды (страховые отчисления)

В данной статье расходов отображены обязательные отчисления по установленным законодательством Российской Федерации нормам органам государственного социального страхования (ФСС), пенсионного фонда (ПФ) и медицинского страхования (ФФОМС) от затрат на оплату труда работников.

Величина отчислений во внебюджетные фонды определяется исходя из следующей формулы:

$$Z_{внеб} = k_{внеб} \cdot (Z_{осн} + Z_{дон}), \quad (23)$$

где $k_{внеб}$ – коэффициент отчислений на уплату во внебюджетные фонды (пенсионный фонд, фонд обязательного медицинского страхования и пр.).

Общая ставка взносов составляет в 2020 году – 30% [40]:

- 22 % – на пенсионное страхование;
- 5,1 % – на медицинское страхование;
- 2,9 % – на социальное страхование.

Для руководителя:

$$З_{внеб} = 0,3 \cdot (30354,8 + 4553,22) = 10472,41 \quad (24)$$

Для биотехнолога:

$$З_{внеб} = 0,3 \cdot (357335,2 + 53600,28) = 123280,64 \quad (25)$$

5.4.4 Накладные расходы

Накладные расходы учитывают прочие затраты организации, не попавшие в предыдущие статьи расходов: печать и ксерокопирование материалов исследования, оплата услуг связи, электроэнергии, почтовые и телеграфные расходы и т.д. Их величина определяется по следующей формуле:

$$З_{накл} = (\text{сумма статей 1- 5}) \cdot k_{нр}, \quad (26)$$

где $k_{нр}$ – коэффициент, учитывающий накладные расходы. Приняли равной 0,16

5.4.5 Формирование бюджета затрат научно-исследовательского проекта

Рассчитанная величина затрат научно-исследовательской работы (темы) является основой для формирования бюджета затрат проекта, который при формировании договора с заказчиком защищается научной организацией в качестве нижнего предела затрат на разработку научно-технической продукции.

Определение бюджета затрат на научно-исследовательский проект по каждому варианту исполнения приведен в таблице 5.10

Таблица 5.10 – Расчет бюджета затрат НИ

Наименование статьи	Сумма, руб.		Примечание
	Руководитель	Биотехнолог	
1. Материальные затраты НТИ	8962,99		Пункт 5.4.1
2. Затраты на специальное оборудование для научных (экспериментальных) работ	8079,00		Пункт 5.4.2
3. Затраты по основной заработной плате исполнителей темы	30354,80	357335,20	Пункт 5.4.3

Продолжение таблицы 5.10

4. Затраты по дополнительной заработной плате исполнителей темы	4553,22	53600,28	Пункт 5.4.4
5. Отчисления во внебюджетные фонды	10472,41	123280,64	Пункт 5.4.5
6. Накладные расходы	95462,16		16 % от суммы ст. 1-5
7. Бюджет затрат НТИ	692100,71		Сумма ст. 1- 6

5.5 Определение ресурсной, финансовой, бюджетной и экономической эффективности исследования

Определение эффективности научного исследования проводилось на основе расчёта интегрального показателя эффективности. Его нахождение связано с определением двух средневзвешенных величин: финансовой эффективности и ресурсоэффективности.

В качестве аналогов для сравнения использованы бизнес-планы по внедрению технологии переработки пластика во вторичную гранулу и с помощью пиролиза [41].

Интегральный показатель финансовой эффективности получили в ходе оценки бюджета затрат трех вариантов реализации инженерного решения, один из которых может быть получен на базе проведённого научного исследования (таблица 5.11). Для этого наибольший интегральный показатель реализации инженерного решения принимался за базу расчета (как знаменатель), с которым соотносятся финансовые значения по всем вариантам исполнения.

Интегральный финансовый показатель разработки определяется как:

$$I_{\text{финр}}^{\text{исп.}i} = \frac{\Phi_{pi}}{\Phi_{\text{max}}}, \quad (27)$$

где $I_{\text{финр}}^{\text{исп.}i}$ – интегральный финансовый показатель разработки;

Φ_{pi} – стоимость i -го варианта исполнения;

Φ_{max} – максимальная стоимость исполнения работы (в т.ч. аналоги).

Провели расчёт для текущего проекта и двух аналогов. Базу расчёта взяли согласно бизнес-плану самого дорогостоящего аналога (переработка во вторичную гранулу).

$$I^m_{\text{финр}} = 692100,71 / 4031200 = 0,1717 \quad (28)$$

$$I^1_{\text{финр}} = 4031200 / 4031200 = 1 \quad (29)$$

$$I^2_{\text{финр}} = 4000000 / 4031200 = 0,99 \quad (30)$$

Полученная величина интегрального финансового показателя разработки для базы расчёта отражает численное удешевление стоимости разработки в размах, для аналога №2 (использование пиролиза) удешевление стоимости незначительно.

Интегральный показатель ресурсоэффективности вариантов исполнения объекта исследования можно определить следующим образом:

$$I_{pi} = \sum a_i \cdot b_i, \quad (31)$$

где I_{pi} – интегральный показатель ресурсоэффективности для i -го варианта исполнения разработки;

a_i – весовой коэффициент i -го варианта исполнения разработки;

b_i^a, b_i^p – бальная оценка i -го варианта исполнения разработки, устанавливается экспертным путем по выбранной шкале оценивания;

n – число параметров сравнения.

Расчет интегрального показателя ресурсоэффективности приведён в таблице 5.11.

Таблица 5.11– Сравнительная оценка характеристик вариантов исполнения проекта

Критерии	Весовой коэффициент параметра	Текущий проект	Аналог 1	Аналог 2
1. Способствует улучшению экологической ситуации	0,20	4	4	4
2. Удобство в эксплуатации	0,15	5	4	3
3. Безопасность для персонала	0,15	4	3	3
4. Эффективность	0,15	4	5	5
5. Энергоэкономичность	0,20	5	3	3
6. Доступность	0,15	5	3	3
ИТОГО	1	27	22	21

Таким образом, $I_{p-m} = 4,5$; $I_{p-1} = 3,65$; $I_{p-2} = 3,5$.

Интегральный показатель эффективности вариантов исполнения разработки ($I_{испн.}$) определялся на основании интегрального показателя ресурсоэффективности и интегрального финансового показателя по формуле:

$$I_{исп.1} = \frac{I_{p-исп1}}{I_{финр}^{исп.1}}, \quad (32)$$

Сравнение интегрального показателя эффективности вариантов исполнения разработки позволило определить сравнительную эффективность проекта (таблица 5.12) и выбрать наиболее целесообразный вариант из предложенных. Сравнительная эффективность проекта (\mathcal{E}_{cp}):

$$\mathcal{E}_{cp} = \frac{I_{исп.1}}{I_{исп.2}} \quad (33)$$

Таблица 5.12 – Сравнительная эффективность разработки

№ п/п	Показатели	Текущий проект	Аналог 1	Аналог 2
1	Интегральный финансовый показатель разработки	0,1717	1	0,99
2	Интегральный показатель ресурсоэффективности разработки	4,5	3,65	3,5
3	Интегральный показатель эффективности	26,21	3,65	3,54
4	Сравнительная эффективность вариантов исполнения	-	7,18	7,40

Сравнили значения интегральных показателей эффективности. Исходя из этого сделан вывод о том, что реализуемый в данной бакалаврской работе вариант решения поставленной технической задачи является наиболее эффективным с позиции задействования финансов и ресурсов.

В настоящей главе выпускной квалификационной работы решили следующие задачи: разработали общую экономическую идею и определили концепцию проекта, провели анализ рынка и его сегментирование. Составили матрицу SWOT, осуществили планирование работ, установили их структуру, а также перечень этапов, распределение исполнителей, определили трудоёмкость работ с последующей разработкой графика проведения научного исследования и календарного плана. Рассчитали бюджет научного исследования – общая сумма составила 692100,71 рублей.